

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Dissertação**

# Sirtuínas

---

Artigo de Revisão Bibliográfica

**Autor:** Tiago João Cardoso Soares

**Orientador:** Dr. Rui Manuel Fonseca Morais Carvalho

**Porto/2014**

**Mestrado Integrado em Medicina**

**Dissertação**

# **Sirtuínas**

---

Artigo de Revisão bibliográfica

Tiago João Cardoso Soares

6º Ano do Mestrado Integrado em Medicina

Instituto de Ciências Abel Salazar – Universidade do Porto

Rua de Jorge Viterbo Ferreira nº228, 4450-313 Porto

Orientador – Dr. Rui Manuel Fonseca Morais Carvalho

Licenciado em Medicina

Assistente Graduado de Endocrinologia no Centro Hospitalar do Porto

**Porto/2014**

# Índice

Acrónimos .....	4
Resumo .....	5
Abstract .....	6
Introdução .....	7
Funções gerais das sirtuínas .....	8
O papel das sirtuínas na restrição calórica e no envelhecimento .....	9
Ação das sirtuínas em órgãos específicos .....	10
Pâncreas.....	10
Fígado.....	10
Músculo.....	11
Tecido adiposo .....	12
Cérebro.....	12
Sirtuínas e doenças.....	13
Cancro: .....	13
Diabetes.....	16
Doenças Neurodegenerativas .....	17
Doença Cardiovasculares .....	18
Ativadores e inibidores das sirtuínas.....	19
Resveratrol .....	19
Outros ativadores das sirtuínas.....	20
Inibidores das sirtuínas.....	21
Conclusão .....	23
Referências bibliográficas .....	24

## Acrónimos

**TOR:** recetor órfão do timo

**RC:** restrição calórica

**UCP2:** proteína de desacoplamento mitocondrial 2

**PPAR:** recetor ativado por proliferador de peroxissoma.

**mTORC2:** complexo proteico que regula o citoesqueleto.

**SREBP:** proteína de ligação a elemento regulador de esterol

**SCD1:** Estearoil-CoA Dessaturase

**PTP:** proteína tirosina fosfatase

**Akt:** proteína quinase B

**FOXO1:** proteína *Forkhead Box O1*

**DGAT1:** diglicerídeo acetiltransferase

**NF-κB:** factor nuclear kappa B

**IDH2:** isocitrato desidrogenase 2

**PI3k:** Fosfoinositídeo 3-quinase

**CREB:** proteína de ligação ao elemento de resposta do AMPc

**BDNF:** fator neurotrófico derivado do cérebro

**PHD2:** prolil hidroxilase 2

**LPS:** Lipopolissacarídeo

**HIC1:** hipermetilação no cancro 1

**P53:** proteína supressora tumoral 53

**BCR:** *breakpoint cluster region*

**ABL1:** *Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*

**STAT5:** sinal do transdutor e ativador de transcrição 5

## **Resumo**

As sirtuínas são uma família de proteínas dependentes do NAD<sup>+</sup> com atividade de desacetilase e ADP-ribosiltransferase. Na *Saccharomyces cerevisiae*, mosca da fruta (*Drosophila melanogaster*) e lombriga (*Caenorhabditis elegans*) o gene regulador de informação silenciosa 2 (SIR2) está envolvido na regulação de uma variedade de processos celulares, nomeadamente no envelhecimento e longevidade celular. O gene homólogo ao Sir2 foi identificado em humanos como sirtuína 1 (SIRT1) e posteriormente foram identificados outros seis, formando um grupo de sete genes (SIRT1 a SIRT7). Estas enzimas estão envolvidas num sistema de resposta biológica complexo, incluindo expressão genética, reparação de ADN, metabolismo e sobrevivência celular. As sirtuínas, mais especificamente a SIRT1, também intervêm e atenuam processos inerentes a doenças associadas ao envelhecimento como patologias inflamatórias crónicas, metabólicas, cardiovasculares, neoplásicas e neurodegenerativas. Em vários estudos, a indução da SIRT1, por compostos naturais como o resveratrol, por potentes ativadores sintéticos ou pelo condicionamento metabólico ligado à restrição calórica, revelou-se uma estratégia promissora na prevenção ou tratamento de diversas doenças. Com esta revisão bibliográfica pretendo elucidar sobre as principais funções das sirtuínas, a sua ação nos diferentes órgãos e nas várias doenças ligadas ao envelhecimento, assim como os seus principais ativadores e inibidores.

### **Palavras-chave:**

Sirtuínas; envelhecimento; restrição calórica; neoplasia; doença cardiovascular; resveratrol.

## **Abstract**

The sirtuins (SIRT 1–7) comprise a family of NAD<sup>+</sup>-dependent protein with activities in deacetylation and ADP-ribosylation. In *Saccharomyces cerevisiae*, the fruit fly (*Drosophila melanogaster*) and worm (*Caenorhabditis Elegans*) the silent information regulator gene 2 (SIR2) is involved in regulating a variety of cellular processes, including those involved in aging and longevity. The homologous Sir2 gene was identified as a human sirtuin 1 (SIRT1) and were subsequently identified six others, forming a group of seven genes (SIRT1 the SIRT7). These proteins are involved in a complex biological response, including gene expression, DNA repair, metabolism and cell survival system. The sirtuins, specifically SIRT1 also intervene and mitigate inherent processes associated with aging as metabolic, cardiovascular, neoplastic, chronic inflammatory and neurodegenerative diseases. In several studies, the induction of SIRT1 by natural compounds such as resveratrol, potent synthetic activators or by metabolic conditioning connected to caloric restriction, proved to be a promising strategy in the prevention or treatment of various diseases. With this literature review I intend to elucidate the main functions of sirtuins, their action in different organs and in several age-related diseases, as well as its main activators and inhibitors.

## **Keywords:**

sirtuins; aging; caloric restriction; cancer; cardiovascular disease; resveratrol;

## Introdução

As sirtuínas são uma família de proteínas homólogas ao regulador de informação silenciosa 2 (Sir2) da levedura que foi clonado e caracterizado em 1984(1). A descoberta do efeito da Sir2 em promover a longevidade em leveduras(2), nemátodes(3), e moscas(4) estimulou um amplo interesse de pesquisa na biologia destas proteínas. Este interesse foi reforçado com estudos que referem que a restrição calórica pode aumentar a sobrevida em mamíferos através do aumento da expressão das sirtuínas(5).

Foram identificadas sete isoformas (SIRT 1-7) em mamíferos, distribuídas em três compartimentos dentro da célula(6). SIRT 1, 2, 6, 7 encontram-se no núcleo; as isoformas SIRT 1 e SIRT 2 são também reconhecidas no citoplasma e as SIRT 3, 4 e 5 estão localizadas na mitocôndria(7, 8). Apesar de todas terem um domínio catalítico comum, as diferentes sirtuínas possuem atividade enzimática distinta, nomeadamente desacetilases de histonas (SIRT1, SIRT2, SIRT3, SIRT5 e SIRT7) e mono-ribosiltransferase (SIRT4 e SIRT6)(9). Recentemente, a SIRT5 mostrou ter atividade de lisina demalonilase e desuccinilase dependente de NAD<sup>+</sup>(10).

As sirtuínas são reguladores importantes de uma ampla variedade de processos celulares e fisiológicos, tais como proliferação celular, diferenciação, resposta ao *stress*, estabilidade do genoma, sobrevivência celular, metabolismo e homeostasia energética e processo de envelhecimento(11). Estas participam também na regulação de diversas patologias, tais como neoplasias, doenças inflamatórias crônicas, diabetes *mellitus*, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas(11).

Uma vez que as sirtuínas participam na regulação de diversos processos celulares e na patogenia de diversas doenças, existe um interesse crescente em descobrir moléculas que modifiquem a sua atividade.

Com esta revisão bibliográfica, pretendo elucidar sobre o papel das sirtuínas nas funções gerais e específicas de cada tecido, a sua participação em diversas doenças, incluindo cancro, diabetes *mellitus*, doenças neurodegenerativas e cardiovasculares, assim como os seus principais ativadores e inibidores e efeitos que estes têm em modelos animais e nos seres humanos.

## Funções gerais das sirtuínas

As sirtuínas têm como alvo diversas proteínas histonas e não histonas (tabela 1).

A SIRT1 atua sobre um grande número de substratos e regula a expressão genética e a atividade proteica de diversos processos celulares tais como, proliferação celular, diferenciação, apoptose, metabolismo, reparação de ADN, resposta ao *stress* e estabilidade do genoma(12). Os ratinhos SIRT -/- geralmente morrem 1 mês após o nascimento, mas alguns sobrevivem até à idade adulta com menor tamanho, infertilidade e doenças autoimunes(13, 14).

A SIRT2 teve como primeiro substrato conhecido a  $\alpha$ -tubulina. Esta regula diversas funções celulares como a progressão do ciclo celular, apoptose e a resposta ao *stress*. A sua ausência em ratinhos do sexo feminino promove o desenvolvimento de cancro da mama, e do sexo masculino ao desenvolvimento de tumores hepáticos e intestinais(15).

A SIRT3 é a principal desacetilase na matriz mitocondrial(16) e desempenha um papel fundamental no metabolismo energético e regulação redox. Ratinhos com ausência de SIRT3 exibem redução dos níveis de ATP, defeitos na oxidação de ácidos gordos, síndrome metabólica e desenvolvimento de tumores mamários(17, 18).

A SIRT4 participa na regulação de diversas funções metabólicas celulares tais como, secreção de insulina e oxidação de ácidos gordos(19, 20). A depleção de SIRT4 em ratinhos promove o desenvolvimento de hiperinsulinemia e neoplasia pulmonar(21).

A SIRT5 tem atividade de desacetilase que atua na carbamoil fosfato sintase 1 (CPS) e catalisa a etapa inicial do ciclo da ureia. Ratinhos com ausência de SIRT5 apresentam defeitos no ciclo da ureia e hiperamonemia após jejum(22).

A SIRT6 é uma ADP-ribosiltransferase e recentemente foi demonstrado ser capaz de remover o grupo acetil da lisina da cadeia pesada de ácidos gordos de forma a regular a secreção do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )(23). A SIRT 6 participa na regulação da transcrição, estabilidade do genoma, metabolismo e no processo de envelhecimento. O seu défice provoca a morte de ratinhos 4 semanas após o nascimento, mostrando um fenótipo prematuro de envelhecimento, hipoglicemia, aumento da captação de glicose, hipertrofia cardíaca, insuficiência cardíaca e instabilidade genómica(24-27).

A SIRT7 regula a atividade da RNA polimerase 1 e a biogénese ribossómica e o seu bloqueio induz apoptose em células humanas(29, 30). O seu défice em ratinhos



provoca a morte após 1 ano, evidenciando fenótipo de envelhecimento prematuro, cardiomiopatia inflamatória e apoptose de cardiomiócitos(31).

**Tabela 1.** Atividade, localização e alvos de cada sirtuína(32).

Sirtuína	Atividade	Localização	Alvos
SIRT1	Desacetilase	Núcleo	FOXO1, FOXO3, PGC-1 $\alpha$ , p53.
		Citoplasma	NF- $\kappa$ B, Notch, HIF1 $\alpha$ , LXR, FXR, SREBP1c, etc
SIRT2	Desacetilase	Citoplasma	FOXO1, PEPCCK, tubulin, PAR-3,
SIRT3	Desacetilase ADP-ribosiltransferase	Mitocôndria	OXPHOS complexes, SOD2, LCAD, HMGCS2, GDH, IDH2, PIP2, ACADL, FOXO3, ACSS2, OTC, GLUD1, NDUFA9, SDHA, ATP5A1, ALDH2, MRPL10, STK11, HISTH3, XRCC6
SIRT4	ADP-ribosiltransferase	Mitocôndria	GDH
SIRT5	Desacetilase Demalonilase Desuccinilase	Mitocôndria	CPS1
SIRT6	ADP-ribosiltransferase	Núcleo	H3k9, H3k56, PARP1, TNF- $\alpha$
SIRT7	Desacetilase	Nucléolo	H3k18

## O papel das sirtuínas na restrição calórica e no envelhecimento

As sirtuínas participam também como sensores de nutrientes, o que sugeriu que estas poderiam mediar os efeitos da restrição calórica (RC) no aumento da longevidade de certos organismos. Assim, realizaram-se vários estudos com modelos animais (leveduras, *Drosophila* e *C.elegans*), e foi possível estabelecer a associação entre a RC e as sirtuínas no aumento da sobrevida destes organismos(33).

Uma vez que existem vários outros sensores de nutrientes além das sirtuínas, tais como o sinalizador de insulina, o alvo da rapamicina (TOR)(34), e a proteína quinase AMP-ativada (AMPK)(35), alguns laboratórios observaram uma extensão da longevidade pela restrição calórica independente da via das sirtuínas(36). No entanto, as linhas de evidência que apoiam a mediação das sirtuínas nos efeitos da RC em mamíferos são numerosas e são descritas a seguir:

Primeiro, as proteínas não-histonas alvo da desacetilação pelas sirtuínas estão envolvidas nas vias de adaptação metabólica à RC, como por exemplo o metabolismo oxidativo na mitocôndria(37). Segundo, a restrição calórica induz a expressão de sirtuínas: SIRT1, SIRT3 e SIRT5 em ratinhos e SIRT1 no Homem. Reciprocamente, uma dieta com alto teor de gordura pode provocar a perda de SIRT1 em ratinhos, e a

obesidade pode reduzir a expressão de SIRT1 no Homem(38). Em terceiro lugar, a perda de função de genes específicos das sirtuínas pode reduzir os resultados que seriam esperados com uma dieta com restrição calórica. Por exemplo, ratinhos com ausência de SIRT1 não mostram o aumento da longevidade produzido por esta dieta(39). Um grande número de estudos foi também capaz de demonstrar que a hiperexpressão de SIRT1 em ratinhos, como acontece na restrição calórica, foram capazes de atenuar algumas doenças, incluindo diabetes, doenças neurodegenerativas e inflamação(40).

Assim, há evidências consistentes de que as sirtuínas regulam o envelhecimento, o que é consistente com o seu papel importante na RC.

## **Ação das sirtuínas em órgãos específicos**

As sirtuínas têm uma multiplicidade de ações diferentes em vários órgãos, o que está de acordo com as funções específicas de cada órgão. Em geral, cada sirtuína tem uma função única em cada um dos tecidos.

### **Pâncreas**

A SIRT1 e SIRT4 foram descritas como tendo uma papel importante na regulação das células pancreáticas. A SIRT1 é capaz de aumentar a transcrição do gene da insulina e aumentar a secreção de insulina estimulada pela glicose (SIEG) através da redução da expressão do gene da UCP2(41). Isto foi confirmado através de ratinhos transgênicos com hiperexpressão de SIRT1, os quais apresentavam aumento da SIEG (42). A SIRT1 também protege as células  $\beta$ -pancreáticas da apoptose induzida pela inflamação(43). Por outro lado, a SIRT4 inibe a secreção de insulina induzida pelos aminoácidos através do GDH(20).

### **Fígado**

Várias sirtuínas desempenham um papel importante no fígado. Quando os níveis de glicose no sangue são baixos, como em situações de jejum, o metabolismo hepático começa imediatamente a degradar o glicogénio e, em seguida, ativa a gliconeogénese de forma a garantir o abastecimento de glicose. O jejum também ativa a oxidação de ácidos

gordos no fígado e músculo, produzida pela lipólise. A SIRT1 medeia este interruptor metabólico durante o jejum(44).

A SIRT1 ativa a gliconeogênese e inibe a glicogenólise(12). Estudos *in vitro* demonstram que a SIRT1 aumenta a oxidação de ácidos gordos, através da ativação do recetor PPAR $\alpha$  (45). Os ratinhos com ausência SIRT1 nas células hepáticas, apresentam hiperprodução de glicose, hiperglicemia crónica e produção aumentada de ROS, o que resulta em *stress* oxidativo mediado pelo mTORC2/AKT e consequentemente insulinoresistência(46).

Além da homeostasia da glicose, o fígado desempenha um papel importante no controlo lipídico e na homeostasia do colesterol. A transcrição de fatores que leva à síntese de colesterol e lipogénese pertencem a uma família de proteínas SREBP(47). Estas proteínas em condições de jejum são destruídas pelo SIRT1, o que resulta na supressão da síntese de triglicéridos e colesterol. Este achado é consistente com o fato de que ratinhos com bloqueio SIRT1 desenvolvem esteatose hepática(48).

A SIRT3 tem vários alvos nos hepatócitos. Em condições de jejum, os níveis de SIRT3 aumentam e promovem a oxidação de ácidos gordos(49). Esta sirtuina também ativa o ciclo da ureia(50) e a cetogénese no fígado(51). O seu bloqueio em ratinhos com dieta rica em gorduras resulta em obesidade mais precoce, resistência à insulina, hiperlipidemia e esteatose hepática. A enzima SCD1 está fortemente induzida nestes ratinhos e o seu bloqueio reverte a esteatose hepática e a resistência à insulina(18).

## **Músculo**

As sirtuínas também desempenham um papel importante na fisiologia muscular. Foi demonstrado que a SIRT1 aumenta a sensibilidade à insulina e a captação da glicose estimulada pela insulina no tecido muscular através da hipoeexpressão de PTP1B(52).

A mudança na utilização de carboidratos para lípidos como fonte de energia é induzida no músculo pelo exercício e o jejum. Quando os níveis de SIRT1 se elevam com o jejum, ocorre a ativação do PGC-1 $\alpha$ , o que promove a oxidação de ácidos gordos(53). Por outro lado, em ratinhos com défice de SIRT6 ocorre hipoglicemia grave com aumento da captação basal de glicose e também da glicose estimulada pela insulina, através da ativação da fosforilação de Akt e do aumento do recrutamento dos transportadores de glicose, GLUT1 e GLUT4, na membrana plasmática(25).

## **Tecido adiposo**

O tecido adiposo tem cada vez mais sido identificado como tendo um papel importante na homeostasia energética. Pelo menos, três sirtuínas (SIRT1, 2 e 6) foram implicadas na função dos adipócitos. SIRT1 pode aumentar a expressão de adiponectina, uma adipocina importante para o metabolismo energético, em parte através da desacetilação da proteína FOXO1(54). Esta última diminui a suscetibilidade à obesidade e à diabetes, aumenta a sensibilidade à insulina e promove a homeostasia da glicose. A SIRT1 também inibe a formação de adipócitos brancos e ativa a lipólise através da supressão de PPAR- $\gamma$ , um regulador importante destas células(55). A SIRT2 também pode inibir a diferenciação dos adipócitos, em parte através da desacetilação da proteína FOXO1(56). Além disso, a SIRT2 ativa o FOXO3 nos adipócitos para reduzir o *stress* oxidativo(57). A SIRT6 foi avaliada como sendo um regulador negativo da expressão do gene DGAT1, o qual diminui a biossíntese de triglicerídeos(58).

## **Cérebro**

O hipotálamo é uma área importante cerebral que participa no controlo da fisiologia humana. Os níveis de SIRT1 no hipotálamo variam em função da dieta e parecem mediar vários aspetos do controlo desta estrutura(59). Por exemplo, na ausência de SIRT1, o eixo somatotrofo é bloqueado. Durante a restrição calórica, os níveis de SIRT1 aumentam no eixo hipotalâmico dorsomedial (HDM) e lateral (HL) e a hiperexpressão dessa sirtuina nos neurónios promove uma atividade física superior e um aumento da temperatura corporal, através da supra-regulação do recetor orexina tipo 2, um recetor envolvido em mecanismos de feedback que regulam o apetite. Nos neurónios pro-opiomelanocortina anorexígenos (POMC), a SIRT1 é essencial para manter o dispêndio normal de energia de acordo com a dieta(61). Os ratinhos desprovidos de SIRT1 nos neurónios POMC são suscetíveis à obesidade(62).

Os níveis de SIRT1 no sistema nervoso central diminuem com o envelhecimento e, de fato a hiperexpressão de SIRT1 pode atrasar o declínio da função circadiana central relacionada com o envelhecimento(63). Além disso, a hiperexpressão de SIRT1 em ratinhos transgénicos, foi capaz de retardar o envelhecimento e prolongar a sua sobrevivência(64).

## Sirtuínas e doenças

### Cancro:

Vários trabalhos de investigação na última década relevaram o papel, muitas vezes controverso, das sirtuínas na relação entre promoção e supressão tumoral.

Todas as sirtuínas, exceto a SIRT5, foram relatadas como estando envolvidas no processo de carcinogénese. No entanto, as suas funções no cancro são complexas e podem contribuir tanto para a promoção do tumor como para a sua supressão dependendo dos contextos celulares e moleculares envolvidos(65).

### **SIRT1**

A SIRT1 desempenha um papel duplo na promoção e supressão tumoral, dependendo do tecido em questão e da distribuição temporal e espacial dos fatores a montante e a jusante desta sirtuína.

Muitos estudos em ratinhos suportam o papel da SIRT1 na estabilidade genómica e na supressão da formação tumoral. A SIRT1 suprime o crescimento do cancro do colón e intestino, fígado, ovário, glioblastoma e bexiga(66). A SIRT1 tem um efeito protetor contra o cancro da mama em ratinhos(67) e cancro do cólon no Homem(68). A capacidade da SIRT1 em transportar a forma oncogénica da  $\beta$ -catenina do núcleo para o citoplasma, limita a sinalização desta subunidade no cancro do cólon. Foi demonstrado que a SIRT1 inibe a via do NF- $\kappa$ B que promove a inflamação e formação de metástases(69). A SIRT1 atua a jusante do BRCA1 de forma a regular negativamente o seu gene anti-apoptótico, Survivina. Assim, a ablação do BRCA1, através da redução de SIRT1, resulta em níveis elevados de survivina e aumenta o crescimento do tumor(67).

Por outro lado, a SIRT1 está elevada em várias neoplasias e pode atuar como silenciador de supressores tumorais, para promover a oncogénese(70). A razão pela qual a expressão de SIRT1 se encontra aumentada no cancro ainda é em grande parte desconhecida e ainda não é claro se a hiperexpressão da SIRT1 é causa ou consequência da oncogénese(71). O aumento da expressão da SIRT1 verificou-se no cancro da mama, cancro da próstata, cancro do cólon, cancro da pele não melanoma, leucemia mieloide aguda e algumas linhas de células T adultas em linfomas/leucemias(72). A razão provável da elevação da expressão de SIRT1 no cancro é devido à perda de um supressor de transcrição, tal como a proteína HIC1. Ratinhos sem HIC1 são propensos a

neoplasias e exibem resistência à apoptose celular dependente da SIRT1(73). Em várias neoplasias a perda de p53 também é observada(74). Por exemplo, a inibição de SIRT1 na leucemia mielóide crónica (LMC) reduz o crescimento das células estaminais quiescentes de leucemia, *in vitro* e *in vivo*, de um modo dependente da p53(75). A translocação Filadélfia que envolve a fusão do gene BCR e o gene ABL1 é a causa da LMC. A quinase BCR-ABL1 é ativada pela via de sinalização do STAT5 e ativa a SIRT1 nas células progenitoras hematopoiéticas, promovendo a sobrevivência e proliferação das células neoplásicas(76). A inibição do BCR-ABL1 reduz parcialmente a expressão de SIRT1 e a ausência de SIRT1 previne a transformação das células hematopoiéticas e a LMC mediadas pelo BCR-ABL1 em ratinhos(76).

## **SIRT2**

Em analogia com a SIRT1, a SIRT2 atua tanto na supressão de tumores como na sua promoção. Foi publicado como tendo um papel supressor em gliomas(77) e melanomas(78). No entanto, a hiperexpressão de SIRT2 apenas reduz moderadamente a proliferação de células gliais(79). A evidência que o SIRT2 pode atuar como supressor de tumores advém do facto que ratinhos com ausência desta sirtuína desenvolvem várias neoplasias, devido principalmente a anomalias na divisão celular e aneuploidias causadas pela expressão aumentada de reguladores mitóticos, inclusive a aurora-quinase(15). A expressão de SIRT2 também se encontra reduzida no adenocarcinoma gástrico e esofágico(80).

Por outro lado, a SIRT2 pode promover a formação de tumores. A expressão de SIRT2 está aumentada na leucemia mielóide aguda quando comparada com as células normais da medula óssea e a inibição da SIRT2 *in vitro* causa apoptose das células neoplásicas desta leucemia(81).

## **SIRT3**

Tal como já foi referido anteriormente, esta sirtuína mitocondrial desempenha um papel crucial no metabolismo e no *stress* oxidativo e é considerada um supressor tumoral. Os níveis de SIRT3 estão reduzidos no cancro do cólon(82), no carcinoma de células escamosas do pescoço e cabeça(83), no carcinoma hepatocelular(84) e osteossarcoma(85). Cerca de 20% das amostras de todos os tumores do Homem e 40% das amostras dos cancros da mama e ovário contêm deleções do SIRT3(82). A inibição do crescimento tumoral pela SIRT3 deve-se à redução de espécies reativas de oxigénio

(ROS) através da regulação do transportador de eletrões, da superóxido dismutase, da IDH2 mitocondrial e do FOXO3a. A SIRT3 diminui o número de ROS e ativa o IDH2 mitocondrial, o que por sua vez aumenta os níveis de NADPH e da glutatona, que é um potente antioxidante celular(86). Esta sirtuína também promove a atividade antioxidante do superóxido dismutase. Recentemente, foi demonstrado que a SIRT3 desacetiliza o proto-oncogene Skp2, levando à sua inativação(87).

Apesar do seu papel incontestável na supressão tumoral, relatos da SIRT3 como promotor de carcinogénese também foram descritos. A expressão de SIRT3 está aumentada em gânglios linfáticos positivos do cancro da mama(88) e no carcinoma de células escamosas oral (CCEO) do Homem.(89). A inibição do SIRT3 em células do CCEO inibe o seu crescimento, diminui a carga tumoral e a sua incidência e sensibiliza as células CCEO para o tratamento com cisplatina e radioterapia, *in vitro*(90).

#### **SIRT4**

Estudos recentes revelaram que a SIRT4 poderá ter um papel de supressor tumoral(21). A expressão desta sirtuína encontra-se diminuída no cancro da bexiga, mama, cólon, estômago, ovário e tiróide, relativamente aos tecidos normais(91). A perda de SIRT4 leva à proliferação de células depende da glutamina e à instabilidade do genoma induzida pelo *stress*, resultando em fenótipos tumorais(21). Os ratinhos com ausência de SIRT4 desenvolvem cancro do pulmão(21).

#### **SIRT6**

Existe um crescente número de evidências sugerindo que a SIRT6 atua como um supressor tumoral. A SIRT6 está diminuída em vários cancros de seres humanos, tais como cancro do pâncreas, colorretal e hepatocelular(92). Esta sirtuína desacetiliza as histonas H3K9 e H3K56. Foi demonstrado que esta última histona costuma estar hiperacetilada nos cancros do cólon, tiróide, pele, fígado e mama(93). Ratinhos com ausência desta sirtuína têm um aumento no número, tamanho e agressividade dos tumores(94). A hiperexpressão de SIRT6 leva a apoptose maciça numa variedade de linhas celulares de cancro, o que não se verifica em células normais(94).

No entanto, existe alguma evidência contraditória desta função de supressão tumoral. Os níveis de mRNA de SIRT6 estão significativamente aumentados em alguns doentes com leucemia linfocítica, apesar da sua relação com o prognóstico ainda não ter sido estabelecida(95). A deleção da SIRT6 sensibiliza as células para o tratamento com

paclitaxel e epirrubicina, enquanto a hiperexpressão de SIRT6 leva ao aumento da sua resistência(96). Em células cancerígenas pancreáticas, a SIRT6 ativa recetores de canais de cálcio, o que aumenta a expressão de citocinas pró-inflamatórias, tais como IL 8 e TNF- $\alpha$ , e promove a migração celular(97).

## **SIRT7**

A expressão do mRNA da SIRT7 está aumentada no cancro da tiróide e da mama, comparando com as células normais destes tecidos(98). A SIRT7 desacetiliza a histona H3K18, que é necessária para a manutenção do fenótipo tumoral em células humanas cancerígenas(28). Muito recentemente verificou-se, que os níveis de SIRT7 estão aumentados no cancro hepatocelular e a ausência da sua expressão suprime eficazmente o crescimento tumoral *in vitro* e *in vivo*(99).

No entanto, no carcinoma de células escamosas da cabeça e pescoço, a expressão de mRNA da SIRT7 está diminuída(83). Um papel anti-proliferativo da SIRT7 tem vindo a ser demonstrado usando células com hiperexpressão e ausência desta sirtuina, e existe uma correlação inversa com o potencial tumoral em muitas linhas celulares de murinos(100).

## **Diabetes**

As sirtuínas têm um papel importante na Diabetes. A hiperexpressão de SIRT1 foi capaz de prevenir a diabetes em vários modelos animais com esta doença, assim como a diabetes que ocorre durante o processo de envelhecimento normal(1). A SIRT1 aumenta a sensibilidade à insulina através da supressão da tirosina fosfatase PTP1B e aumenta a secreção de insulina pela supressão de UCP2(101).

Os produtos finais de glicosilação avançada têm um efeito pró-oxidante e a sua contribuição para a resistência à insulina na diabetes tipo 2 pode envolver a supressão da expressão SIRT1(102).

A expressão diminuída de SIRT1 induz a expressão do gene pró-apoptótico Bcl2I11, e leva a apoptose de podócitos glomerulares. Os autores deste estudo defendem que a estimulação da SIRT1 nos podócitos seria capaz de prevenir a sua perda na nefropatia diabética(104). A lesão de podócitos e o dano mitocondrial causado pela



aldosterona pode ser evitado através da ativação de SIRT1 e este efeito preventivo envolve a suprarregulação de PGC-1 $\alpha$ (105).

### **Doenças Neurodegenerativas**

Um defeito funcional na atividade das sirtuínas parece estar envolvido numa variedade de doenças neurológicas que aumentam de frequência com o envelhecimento. O declínio cognitivo que ocorre com o envelhecimento poderá vir a ser combatido pela ativação de sirtuínas.

A SIRT1 melhora a aprendizagem e memória em ratinhos e a sua expressão no hipocampo é crucial para estas ações(106). Esta sirtuina também suprime o miR-134, que normalmente atua diminuindo a expressão de CREB e BDNF, o que prejudica a plasticidade sináptica. A SIRT1 também promove o crescimento e a sobrevivência de neurónios no sistema nervoso central diminuindo a expressão de TOR(107).

A doença de Alzheimer é uma das doenças neuro degenerativas mais comuns no mundo. Em modelos animais com esta doença, a ativação de SIRT1 foi capaz de prevenir a degenerescência axonal e a neurodegenerescência(108). Através da inibição da sinalização do NF- $\kappa$ B na microglia, a SIRT1 protege contra a toxicidade  $\beta$ -amilóide. Os aumentos de agregados de proteína tau podem também ser revertidos pela capacidade desta sirtuína em desacetilar esta proteína(109). Em ratinhos com doença de Alzheimer, a hiperexpressão de SIRT1 no cérebro reduziu a proteína  $\beta$ -amiloide por clivagem proteolítica da proteína percussora amilóide(110).

Em ratinhos com doença de Huntington, a hiperexpressão de SIRT1 melhora a neuropatologia desta doença e aumenta a sobrevida, enquanto a sua ausência no cérebro causa exacerbação da doença(112).

A doença de Parkinson caracteriza-se pela acumulação de corpos de Lewy e atrofia de múltiplos sistemas, que envolve o efeito patogénico da proteína  $\alpha$ -sinucleína. A hiperexpressão de SIRT1 no cérebro de ratinhos com mutação  $\alpha$ -sinucleína aumenta a sua sobrevida(113).

Enquanto a ativação de SIRT1 é neuroprotetora, a hiperexpressão de SIRT2 no cérebro é tóxica para as células neuronais. A inibição da SIRT2 protege os neurónios dopaminérgicos contra a morte celular num modelo de *Drosophila* e num modelo

celular com doença de Parkinson(114). A SIRT2 poderá ter efeitos adversos como, acumulação e agregação  $\beta$ -amilóide e de outras proteínas(115).

O papel das outras sirtuínas nas doenças e funções neurológicas ainda necessita de maior investigação.

### **Doença Cardiovasculares**

Por diferentes vias, a SIRT1 protege contras os processos que levam à doença cardiovascular(116). A aterosclerose é uma doença causada em parte pela inflamação dos vasos sanguíneos. O óxido nítrico é crucial para a manutenção do bom funcionamento do endotélio vascular e pode promover a angiogénese, proliferação do músculo liso e redução da acumulação de placa aterosclerótica. Curiosamente, o aumento da SIRT1 é capaz de induzir a enzima óxido nítrico sintetase do endotélio (eNOS), e assim aumentar a produção de óxido nítrico, o que leva à redução de placa aterosclerótica(117). Esta sirtuína também inibe a via proinflamatória NF- $\kappa$ B o que diminui a probabilidade de lesão aterosclerótica(118).

O *remodeling* vascular induzido pela hipertensão parece envolver a SIRT2, que desacetiliza os microtúbulos, levando a redistribuição das células endoteliais em resposta a angiotensina 2 e ao estiramento mecânico(119).

A SIRT1 desempenha um papel importante na preservação da viabilidade celular durante a hipoxia. Em resposta à hipoxia, a expressão e atividade desta sirtuína aumenta, o que leva a ativação HIF-2 $\alpha$  e degradação do PHD2, que estão envolvidos na formação de respostas adaptativas para a sobrevivência da célula em resposta a alterações na tensão de oxigénio(120).

Para além dos efeitos a nível vascular já mencionados, as sirtuínas também apresentam benefícios a nível cardíaco. Por exemplo, a hiperexpressão de SIRT1 protege contra a hipertrofia cardíaca e esta ação envolve em parte a ativação do PPAR- $\alpha$ (121). A SIRT3 através da modulação da homeostasia mitocondrial e das proteínas que medeiam o metabolismo energético, também é capaz de impedir a hipertrofia cardíaca(122). A hiperexpressão de SIRT6, pode suprimir a hipertrofia de cardiomiócitos induzida pela angiotensina 2, através da sua ligação à subunidade p65 do NF- $\kappa$ B, bloqueando o seu efeito na transcrição(123).

## Ativadores e inibidores das sirtuínas

### Resveratrol

Em 2003, o resveratrol (RSV) foi descoberto como sendo um potente ativador da SIRT1. A fonte mais rica deste composto é o *Polygonum cuspidatum* (Reynoutria japonica), uma planta usada na medicina oriental(124). Embora os dados de uma série de estudos realizados em modelos de ratinhos demonstrem claramente benefícios para a saúde, como aumento da sensibilidade à insulina, aumento da tolerância à glicose, diminuição nos níveis de lípidos no plasma e de gordura no fígado, um aprimoramento da biogénese mitocondrial, e uma supressão da inflamação e *stress* oxidativo(125), apenas um número limitado de estudos clínicos humanos estão disponíveis sobre os seus potenciais efeitos.

Estudos *in vivo* com ratinhos alimentados com uma dieta hipercalórica demonstraram que o resveratrol melhora o estado geral de saúde(126), verificando-se uma redução marcada dos sinais de envelhecimento, incluindo diminuição da formação de cataratas, diminuição da inflamação e apoptose no endotélio vascular, aumento da elasticidade da aorta, maior coordenação motora, e densidade mineral óssea preservada(127). O resveratrol administrado em ratinhos é capaz de atravessar a barreira hematoencefálica, onde ele pode proteger contra a lesão cerebral, prevenir o declínio cognitivo e promover a neuroprotecção em geral(128) e demonstrou ser capaz de atenuar sintomas de doenças neurológicas como a Doença de Alzheimer(108), Doença de Parkinson(129) e esclerose múltipla(130).

Uma das funções principais da SIRT1 é a sua atividade anti-inflamatória, mediada em grande parte pela inibição do NF- $\kappa$ B, um regulador chave da resposta imune. A administração de resveratrol em modelos de ratos com inflamação tecidular devido a doença pulmonar obstrutiva crónica(131) ou doença de Crohn(132) obteve uma boa resposta com redução da inflamação.

Uma formulação nutricional contendo 150 mg/dia de resveratrol também demonstrou ter efeitos benéficos em homens obesos saudáveis, observando-se diminuição do conteúdo lipídico intra-hepático, glicemia, triglicerídeos, alanina aminotransferase e marcadores de inflamação(133). Além disso, a suplementação oral com RSV induziu uma melhoria aguda na vasodilatação depende do endotélio, o que se correlacionou com um aumento da concentração de RSV no plasma(134). A SIRT501,

uma formulação comercial de RSV, mostrou reduzir a concentração de glicose no sangue e melhorar a sensibilidade à insulina em doentes com diabetes tipo 2 (135).

Apesar dos seus efeitos benéficos em vários modelos animais, ainda existe alguma controvérsia e desconhecimento sobre quais as vias pela qual o resveratrol atua e se este é um ativador direto ou indireto da SIRT1(136). Mais estudos são necessários sobre quais os seus mecanismos e os efeitos no metabolismo e na saúde dos seres humanos.

### **Outros ativadores das sirtuínas**

A implicação das sirtuínas na regulação de vários processos metabólicos, focou a atenção na descoberta de moléculas que fossem capazes de estimular a atividade das sirtuínas de uma forma mais potente que o resveratrol.

A SRT1720, é um composto sintético com potência 100x superior ao resveratrol e estimula a atividade da SIRT1(137). Recentemente, foi relatado que o SRT1720 aumentou tanto a sobrevida média como o tempo de vida máximo de ratinhos adultos alimentados com uma dieta rica em gordura, e a extensão do tempo foi acompanhada de benefícios para a saúde, incluindo redução da esteatose hepática, aumento da sensibilidade à insulina, normalização de perfis de expressão génica e marcadores de inflamação e apoptose, tudo na ausência de qualquer toxicidade observável(138). Além disso, numa avaliação pré-clínica para o tratamento do cancro, o SRT1720 induziu apoptose em células de mieloma múltiplo *in vitro* e reduziu significativamente o crescimento do tumor(139).

O SRT2104 é um ativador da SIRT1 recentemente desenvolvido, capaz de atenuar a inflamação em modelos animais com colite. A administração de SRT2104 em ratinhos, produziu uma maior redução na pontuação de colite quando comparado com a prednisolona, enquanto melhorou a perda de peso corporal(140). O SRT2104 foi relatado como sendo bem tolerado em seres humanos e por melhorar o perfil lipídico de fumadores(141). Num estudo duplo-cego, controlado por placebo, o SRT2104 mostrou reduzir significativamente a libertação de IL-6 e IL-8 induzida pelo lipopolissacarídeo (LPS), assim como a ativação da coagulação(142).

Deve ser mencionado que, até à data, nenhum dos ativadores das sirtuínas demonstrou aumentar a expectativa de vida de ratinhos alimentados com uma dieta

normal. No entanto, os efeitos da ativação das sirtuínas na saúde global e nas doenças relacionadas com a idade pode ser tão ou mais interessante quanto o seu efeito de aumentar a esperança de vida.

### **Inibidores das sirtuínas**

Embora os efeitos benéficos do aumento da atividade da SIRT1 observada em vários modelos animais favorecem a descoberta e criação de ativadores farmacológicos desta sirtuína, os seus inibidores podem também ser potencialmente úteis como agentes terapêuticos, uma vez que a suprarregulação da SIRT1 foi observada em várias linhas celulares de cancro, levantando a possibilidade de que a inibição da SIRT1 pode suprimir a proliferação de células cancerígenas(143).

Em contraste com a área dos ativadores, onde apenas ativadores da SIRT1 tem sido desenvolvidos, vários inibidores de sirtuínas foram identificados, nomeadamente das SIRT1, SIRT2 e SIRT3(144).

O sirtinol é principalmente um inibidor da atividade de Sir2 na levedura e SIRT2 em humanos. O seu efeito inibitório no crescimento celular foi descrito no cancro da mama e pulmão de seres humanos e foi capaz de aumentar a quimiossensibilidade de várias linhas celulares para a camptotecina e cisplatina(145).

A inibição da atividade de SIRT2 foi descrita com conferindo neuroprotecção. O inibidor potente e seletivo da SIRT2, AGK2, demonstrou proteger a degenerescência de células dopaminérgicas num modelo de Drosophila com doença de Parkinson(146). Além disso, a inibição da SIRT2 também alcançou neuroprotecção em modelos celulares e de invertebrados na doença de Huntington(147).

O cambinol é um inibidor da SIRT1 e SIRT2 *in vitro*. É bem tolerado em ratinhos e demonstra atividade contra linhas celulares com linfoma de Burkitt, induzindo apoptose através da acetilação da proteína oncogene BCL6 e p53(148).

A tenovina é um inibidor da SIRT1 e apresenta duas isoformas: tenovina-1 e tenovina-6. A ativação de SIRT1 é capaz de promover a sobrevivência de células na leucemia mielóide crónica. O tratamento de ratinhos com tenovina-6 (inibidor da SIRT1) foi capaz de prevenir a progressão desta doença(76).

A salermida tem um potente efeito inibidor sobre a SIRT1 e SIRT2. É bem tolerada em ratinhos e induz a apoptose celular independente de p53 no cancro mas não

em células normais, através da reativação de genes pró-apoptóticos que tinha sido epigeneticamente reprimidos nas células cancerosas(149).

## **Conclusão**

Na última década, o estudo das sirtuínas fez um progresso notável e ampliou o conhecimento acerca destas moléculas. No entanto, a compreensão acerca da biologia e mecanismos das sirtuínas ainda está longe de estar completa e muitas perguntas ainda necessitam de ser respondidas.

Os dados atuais sugerem que estas proteínas são reguladas pela dieta e, por sua vez, regulam múltiplas facetas da fisiologia, tornando-os alvos terapêuticos interessantes para uma diversidade de doenças. Assim, para atingir esse objetivo de uma intervenção terapêutica eficaz em seres humanos através desta via, ainda é necessário realizar mais estudos para elucidar totalmente as suas funções e mecanismos nos diferentes tecidos.

Emergindo da pesquisa sobre as sirtuínas existe uma crescente compreensão de que eles são um sistema de resposta biológica muito complexo, que influencia muitas outras moléculas reguladoras e vias de sinalização. Recentemente, o interesse crescente na modulação das sirtuínas levou à descoberta e caracterização de moléculas pequenas, capazes de modificar a sua atividade. O desenvolvimento destes potentes moduladores poderá vir a reverter o processo da doença e, possivelmente, aumentar o tempo de vida humano.

## Referências bibliográficas

1. Shore D, Squire M, Nasmyth KA. Characterization of two genes required for the position-effect control of yeast mating-type genes. *The EMBO journal*. 1984;3(12):2817-23.
2. Kaerberlein M, McVey M, Guarente L. The SIR2/3/4 complex and SIR2 alone promote longevity in *Saccharomyces cerevisiae* by two different mechanisms. *Genes & development*. 1999;13(19):2570-80.
3. Tissenbaum HA, Guarente L. Increased dosage of a sir-2 gene extends lifespan in *Caenorhabditis elegans*. *Nature*. 2001;410(6825):227-30.
4. Rogina B, Helfand SL. Sir2 mediates longevity in the fly through a pathway related to calorie restriction. *P Natl Acad Sci USA*. 2004;101(45):15998-6003.
5. Cohen HY, Miller C, Bitterman KJ, Wall NR, Hekking B, Kessler B, et al. Calorie restriction promotes mammalian cell survival by inducing the SIRT1 deacetylase. *Science*. 2004;305(5682):390-2.
6. Park S, Mori R, Shimokawa I. Do sirtuins promote mammalian longevity?: A Critical review on its relevance to the longevity effect induced by calorie restriction. *Mol Cells*. 2013;35(6):474-80.
7. Michishita E, Park JY, Burneskis JM, Barrett JC, Horikawa I. Evolutionarily conserved and nonconserved cellular localizations and functions of human SIRT proteins. *Molecular biology of the cell*. 2005;16(10):4623-35.
8. Tennen RI, Berber E, Chua KF. Functional dissection of SIRT6: identification of domains that regulate histone deacetylase activity and chromatin localization. *Mechanisms of ageing and development*. 2010;131(3):185-92.
9. Suvarna BS. Sirtuins: the future insight. *Kathmandu University medical journal*. 2012;10(38):77-82.
10. Du JT, Zhou YY, Su XY, Yu JJ, Khan S, Jiang H, et al. Sirt5 Is a NAD-Dependent Protein Lysine Demalonylase and Desuccinylase. *Science*. 2011;334(6057):806-9.
11. Michan S, Sinclair D. Sirtuins in mammals: insights into their biological function. *Biochem J*. 2007;404:1-13.
12. Houtkooper RH, Pirinen E, Auwerx J. Sirtuins as regulators of metabolism and healthspan. *Nat Rev Mol Cell Bio*. 2012;13(4):225-38.
13. Cheng HL, Mostoslavsky R, Saito S, Manis JP, Gu YS, Patel P, et al. Developmental defects and p53 hyperacetylation in Sir2 homolog (SIRT1)-deficient mice. *P Natl Acad Sci USA*. 2003;100(19):10794-9.
14. Sequeira J, Boily G, Bazinet S, Saliba S, He X, Jardine K, et al. sirt1-null mice develop an autoimmune-like condition. *Exp Cell Res*. 2008;314(16):3069-74.
15. Kim HS, Vassilopoulos A, Wang RH, Lahusen T, Xiao Z, Xu XL, et al. SIRT2 Maintains Genome Integrity and Suppresses Tumorigenesis through Regulating APC/C Activity. *Cancer Cell*. 2011;20(4):487-99.
16. Lombard DB, Alt FW, Cheng HL, Bunkenborg J, Streeper RS, Mostoslavsky R, et al. Mammalian sir2 homolog SIRT3 regulates global mitochondrial lysine acetylation. *Mol Cell Biol*. 2007;27(24):8807-14.
17. Kim HS, Patel K, Muldoon-Jacobs K, Bisht KS, Aykin-Burns N, Pennington JD, et al. SIRT3 Is a Mitochondria-Localized Tumor Suppressor Required for Maintenance of Mitochondrial Integrity and Metabolism during Stress. *Cancer Cell*. 2010;17(1):41-52.
18. Hirschey MD, Shimazu T, Jing E, Grueter CA, Collins AM, Aouizerat B, et al. SIRT3 Deficiency and Mitochondrial Protein Hyperacetylation Accelerate the Development of the Metabolic Syndrome. *Mol Cell*. 2011;44(2):177-90.
19. Nasrin N, Wu XP, Fortier E, Feng YJ, Bare OC, Chen SM, et al. SIRT4 Regulates Fatty Acid Oxidation and Mitochondrial Gene Expression in Liver and Muscle Cells. *J Biol Chem*. 2010;285(42):31995-2002.
20. Ahuja N, Schwer B, Carobbio S, Waltregny D, North BJ, Castronovo V, et al. Regulation of insulin secretion by SIRT4, a mitochondrial ADP-ribosyltransferase. *J Biol Chem*. 2007;282(46).



21. Jeong SM, Xiao CY, Finley LWS, Lahusen T, Souza AL, Pierce K, et al. SIRT4 Has Tumor-Suppressive Activity and Regulates the Cellular Metabolic Response to DNA Damage by Inhibiting Mitochondrial Glutamine Metabolism. *Cancer Cell*. 2013;23(4):450-63.
22. Nakagawa T, Lomb DJ, Haigis MC, Guarente L. SIRT5 Deacetylates Carbamoyl Phosphate Synthetase 1 and Regulates the Urea Cycle. *Cell*. 2009;137(3):560-70.
23. Jiang H, Khan S, Wang Y, Charron G, He B, Sebastian C, et al. SIRT6 regulates TNF- $\alpha$  secretion through hydrolysis of long-chain fatty acyl lysine. *Nature*. 2013;496(7443):110-+.
24. Mao ZY, Tian X, Van Meter M, Ke ZH, Gorbunova V, Seluanov A. Sirtuin 6 (SIRT6) rescues the decline of homologous recombination repair during replicative senescence. *P Natl Acad Sci USA*. 2012;109(29):11800-5.
25. Xiao CY, Kim HS, Lahusen T, Wang RH, Xu XL, Gavrilova O, et al. SIRT6 Deficiency Results in Severe Hypoglycemia by Enhancing Both Basal and Insulin-stimulated Glucose Uptake in Mice. *J Biol Chem*. 2010;285(47):36776-84.
26. Sundaresan NR, Vasudevan P, Zhong L, Kim G, Samant S, Parekh V, et al. The sirtuin SIRT6 blocks IGF-Akt signaling and development of cardiac hypertrophy by targeting c-Jun. *Nat Med*. 2012;18(11):1643-+.
27. Kanfi Y, Naiman S, Amir G, Peshti V, Zinman G, Nahum L, et al. The sirtuin SIRT6 regulates lifespan in male mice. *Nature*. 2012;483(7388):218-21.
28. Barber MF, Michishita-Kioi E, Xi YX, Tasselli L, Kioi M, Moqtaderi Z, et al. SIRT7 links H3K18 deacetylation to maintenance of oncogenic transformation. *Nature*. 2012;487(7405):114-+.
29. Ford E, Voit R, Liszt G, Magin C, GrumMt I, Guarente L. Mammalian Sir2 homolog SIRT7 is an activator of RNA polymerase I transcription. *Genes & development*. 2006;20(9):1075-80.
30. Grob A, Roussel P, Wright JE, McStay B, Hernandez-Verdun D, Sirri V. Involvement of SIRT7 in resumption of rDNA transcription at the exit from mitosis. *J Cell Sci*. 2009;122(4):489-98.
31. Vakhrusheva O, Smolka C, Gajawada P, Kostin S, Boettger T, Kubin T, et al. Sirt7 increases stress resistance of cardiomyocytes and prevents apoptosis and inflammatory cardiomyopathy in mice. *Circ Res*. 2008;102(6):703-10.
32. He WJ, Newman JC, Wang MZ, Ho L, Verdin E. Mitochondrial sirtuins: regulators of protein acylation and metabolism. *Trends Endocrin Met*. 2012;23(9):467-76.
33. Chalkiadaki A, Guarente L. Sirtuins mediate mammalian metabolic responses to nutrient availability. *Nature reviews Endocrinology*. 2012;8(5):287-96.
34. Johnson SC, Rabinovitch PS, Kaerberlein M. mTOR is a key modulator of ageing and age-related disease. *Nature*. 2013;493(7432):338-45.
35. Kahn BB, Alquier T, Carling D, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: ancient energy gauge provides clues to modern understanding of metabolism. *Cell Metab*. 2005;1(1):15-25.
36. Kaerberlein M, Andalis AA, Liszt GB, Fink GR, Guarente L. *Saccharomyces cerevisiae* SSD1-V confers longevity by a Sir2p-independent mechanism. *Genetics*. 2004;166(4):1661-72.
37. Guarente L. Calorie restriction and sirtuins revisited. *Genes & development*. 2013;27(19):2072-85.
38. Civitarese AE, Carling S, Heilbronn LK, Hulver MH, Ukropcova B, Deutsch WA, et al. Calorie restriction increases muscle mitochondrial biogenesis in healthy humans. *Plos Med*. 2007;4(3):485-94.
39. Boily G, Seifert EL, Bevilacqua L, He XH, Sabourin G, Estey C, et al. SirT1 Regulates Energy Metabolism and Response to Caloric Restriction in Mice. *Plos One*. 2008;3(3).
40. Bordone L, Cohen D, Robinson A, Motta MC, van Veen E, Czopik A, et al. SIRT1 transgenic mice show phenotypes resembling calorie restriction. *Aging cell*. 2007;6(6):759-67.
41. Bordone L, Motta MC, Picard F, Robinson A, Jhala US, Apfeld J, et al. Sirt1 regulates insulin secretion by repressing UCP2 in pancreatic beta cells. *Plos Biol*. 2006;4(2):210-20.

42. Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Meneur C, et al. Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab.* 2005;2(2):105-17.
43. Lee JH, Song MY, Song EK, Kim EK, Moon WS, Han MK, et al. Overexpression of SIRT1 Protects Pancreatic beta-Cells Against Cytokine Toxicity by Suppressing the Nuclear Factor-kappa B Signaling Pathway. *Diabetes.* 2009;58(2):344-51.
44. Liu Y, Dentin R, Chen D, Hedrick S, Ravnskjaer K, Schenk S, et al. A fasting inducible switch modulates gluconeogenesis via activator/coactivator exchange. *Nature.* 2008;456(7219):269-U74.
45. Rodgers JT, Puigserver P. Fasting-dependent glucose and lipid metabolic response through hepatic sirtuin 1. *P Natl Acad Sci USA.* 2007;104(31):12861-6.
46. Wang RH, Kim HS, Xiao CY, Xu XL, Gavrilova O, Deng CX. Hepatic Sirt1 deficiency in mice impairs mTorc2/Akt signaling and results in hyperglycemia, oxidative damage, and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2011;121(11):4477-90.
47. Horton JD, Goldstein JL, Brown MS. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver. *J Clin Invest.* 2002;109(9):1125-31.
48. Purushotham A, Schug TT, Xu Q, Surapureddi S, Guo XM, Li XL. Hepatocyte-Specific Deletion of SIRT1 Alters Fatty Acid Metabolism and Results in Hepatic Steatosis and Inflammation. *Cell Metab.* 2009;9(4):327-38.
49. Hirschey MD, Shimazu T, Goetzman E, Jing E, Schwer B, Lombard DB, et al. SIRT3 regulates mitochondrial fatty-acid oxidation by reversible enzyme deacetylation. *Nature.* 2010;464(7285):121-U37.
50. Chen D, Steele AD, Lindquist S, Guarente L. Increase in activity during calorie restriction requires Sirt1. *Science.* 2005;310(5754):1641-.
51. Shimazu T, Hirschey MD, Hua L, Dittenhafer-Reed KE, Schwer B, Lombard DB, et al. SIRT3 Deacetylates Mitochondrial 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl CoA Synthase 2 and Regulates Ketone Body Production. *Cell Metab.* 2010;12(6):654-61.
52. Sun C, Zhang F, Ge XJ, Yan TT, Chen XM, Shi XL, et al. SIRT1 improves insulin sensitivity under insulin-resistant conditions by repressing PTP1B. *Cell Metab.* 2007;6(4):307-19.
53. Gerhart-Hines Z, Rodgers JT, Bare O, Kim CLSH, Kim SH, Mostoslavsky R, et al. Metabolic control of muscle mitochondrial function and fatty acid oxidation through SIRT1/PGC-1 alpha. *Embo Journal.* 2007;26(7):1913-23.
54. Qiao LP, Shao JH. SIRT1 regulates adiponectin gene expression through Foxo1-C/enhancer-binding protein alpha transcriptional complex. *J Biol Chem.* 2006;281(52):39915-24.
55. Picard F, Kurtev M, Chung N, Topark-Ngarm A, Senawong T, de Oliveira RM, et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma (vol 429, pg 771, 2004). *Nature.* 2004;430(7002):921-.
56. Wang F, Tong Q. SIRT2 Suppresses Adipocyte Differentiation by Deacetylating FOXO1 and Enhancing FOXO1's Repressive Interaction with PPAR gamma. *Molecular biology of the cell.* 2009;20(3):801-8.
57. Wang F, Nguyen M, Qin FX, Tong Q. SIRT2 deacetylates FOXO3a in response to oxidative stress and caloric restriction. *Aging cell.* 2007;6(4):505-14.
58. Kanfi Y, Peshti V, Gil R, Naiman S, Nahum L, Levin E, et al. SIRT6 protects against pathological damage caused by diet-induced obesity. *Aging cell.* 2010;9(2):162-73.
59. Ramadori G, Lee CE, Bookout AL, Lee S, Williams KW, Anderson J, et al. Brain SIRT1: anatomical distribution and regulation by energy availability. *J Neurosci.* 2008;28(40):9989-96.
60. Cohen DE, Supinski AM, Bonkowski MS, Donmez G, Guarente LP. Neuronal SIRT1 regulates endocrine and behavioral responses to calorie restriction. *Genes & development.* 2009;23(24):2812-7.
61. Satoh A, Brace CS, Ben-Josef G, West T, Wozniak DF, Holtzman DM, et al. SIRT1 Promotes the Central Adaptive Response to Diet Restriction through Activation of the Dorsomedial and Lateral Nuclei of the Hypothalamus. *J Neurosci.* 2010;30(30):10220-32.

62. Ramadori G, Fujikawa T, Fukuda M, Anderson J, Morgan DA, Mostoslavsky R, et al. SIRT1 Deacetylase in POMC Neurons Is Required for Homeostatic Defenses against Diet-Induced Obesity. *Cell Metab.* 2010;12(1):78-87.
63. Chang HC, Guarente L. SIRT1 Mediates Central Circadian Control in the SCN by a Mechanism that Decays with Aging. *Cell.* 2013;153(7):1448-60.
64. Satoh A, Brace CS, Rensing N, Cliften P, Wozniak DF, Herzog ED, et al. Sirt1 Extends Life Span and Delays Aging in Mice through the Regulation of Nk2 Homeobox 1 in the DMH and LH. *Cell Metab.* 2013;18(3):416-30.
65. Roth M, Chen WY. Sorting out functions of sirtuins in cancer. *Oncogene.* 2014;33(13):1609-20.
66. Deng CX. SIRT1, Is It a Tumor Promoter or Tumor Suppressor? *Int J Biol Sci.* 2009;5(2):147-52.
67. Wang RH, Zheng Y, Kim HS, Xu XL, Cao L, Luhasen T, et al. Interplay among BRCA1, SIRT1, and Survivin during BRCA1-Associated Tumorigenesis. *Mol Cell.* 2008;32(1):11-20.
68. Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, et al. The SIRT1 Deacetylase Suppresses Intestinal Tumorigenesis and Colon Cancer Growth. *Plos One.* 2008;3(4).
69. Wang SL, Liu ZJ, Wang LS, Zhang XR. NF-kappa B Signaling Pathway, Inflammation and Colorectal Cancer. *Cell Mol Immunol.* 2009;6(5):327-34.
70. Liu T, Liu PY, Marshall GM. The Critical Role of the Class III Histone Deacetylase SIRT1 in Cancer. *Cancer Res.* 2009;69(5):1702-5.
71. Lim CS. SIRT1: Tumor promoter or tumor suppressor? *Med Hypotheses.* 2006;67(2):341-4.
72. Bradbury CA, Khanim FL, Mehta P, Hayden RE, Craddock CF, Bunce CM, et al. A specific pattern of histone deacetylase (HDAC) expression can be identified in acute myeloid leukaemia: Relevance for targeted therapy with histone deacetylase inhibitors. *Brit J Haematol.* 2005;129:30-.
73. Chen WY, Wang DH, Yen RWC, Luo JY, Gu W, Baylin SB. Tumor suppressor HIC1 directly regulates SIRT1 to modulate p53-dependent DNA-damage responses. *Cell.* 2005;123(3):437-48.
74. Nemoto S, Fergusson MM, Finkel T. Nutrient availability regulates SIRT1 through a forkhead-dependent pathway. *Science.* 2004;306(5704):2105-8.
75. Li L, Wang LS, Li L, Wang ZQ, Ho YW, McDonald T, et al. Activation of p53 by SIRT1 Inhibition Enhances Elimination of CML Leukemia Stem Cells in Combination with Imatinib. *Cancer Cell.* 2012;21(2):266-81.
76. Yuan HF, Wang ZQ, Li L, Zhang H, Modi H, Horne D, et al. Activation of stress response gene SIRT1 by BCR-ABL promotes leukemogenesis. *Blood.* 2012;119(8):1904-14.
77. Hiratsuka M, Inoue T, Toda T, Kimura N, Shirayoshi Y, Kamitani H, et al. Proteomics-based identification of differentially expressed genes in human gliomas: down-regulation of SIRT2 gene. *Biochem Bioph Res Co.* 2003;309(3):558-66.
78. Lennerz V, Fatho M, Gentilini C, Frye RA, Lifke A, Ferrel D, et al. The response of autologous T cells to a human melanoma is dominated by mutated neoantigens. *P Natl Acad Sci USA.* 2005;102(44):16013-8.
79. North BJ, Verdin E. Mitotic regulation of SIRT2 by cyclin-dependent kinase 1-dependent phosphorylation. *J Biol Chem.* 2007;282(27):19546-55.
80. Peters CJ, Rees JRE, Hardwick RH, Hardwick JS, Vowler SL, Ong CAJ, et al. A 4- Gene Signature Predicts Survival of Patients With Resected Adenocarcinoma of the Esophagus, Junction, and Gastric Cardia. *Gastroenterology.* 2010;139(6):1995-U280.
81. Dan L, Klimenkova O, Klimiankou M, Klusman JH, van den Heuvel-Eibrink MM, Reinhardt D, et al. The role of sirtuin 2 activation by nicotinamide phosphoribosyltransferase in the aberrant proliferation and survival of myeloid leukemia cells. *Haematol-Hematol J.* 2012;97(4):551-9.

82. Finley LWS, Carracedo A, Lee J, Souza A, Egia A, Zhang JW, et al. SIRT3 Opposes Reprogramming of Cancer Cell Metabolism through HIF1  $\alpha$  Destabilization. *Cancer Cell*. 2011;19(3):416-28.
83. Lai CC, Lin PM, Lin SF, Hsu CH, Lin HC, Hu ML, et al. Altered expression of SIRT gene family in head and neck squamous cell carcinoma. *Tumor Biol*. 2013;34(3):1847-54.
84. Zhang CZ, Liu LL, Cai MY, Pan YH, Fu J, Cao Y, et al. Low SIRT3 Expression Correlates with Poor Differentiation and Unfavorable Prognosis in Primary Hepatocellular Carcinoma. *Plos One*. 2012;7(12).
85. Zhang YY, Zhou LM. Sirt3 inhibits hepatocellular carcinoma cell growth through reducing Mdm2-mediated p53 degradation. *Biochem Bioph Res Co*. 2012;423(1):26-31.
86. Someya S, Yu W, Hallows WC, Xu JZ, Vann JM, Leeuwenburgh C, et al. Sirt3 Mediates Reduction of Oxidative Damage and Prevention of Age-Related Hearing Loss under Caloric Restriction. *Cell*. 2010;143(5):802-12.
87. Inuzuka H, Gao DM, Finley LWS, Yang W, Wan LX, Fukushima H, et al. Acetylation-Dependent Regulation of Skp2 Function. *Cell*. 2012;150(1):179-93.
88. Ashraf N, Zino S, MacIntyre A, Kingsmore D, Payne AP, George WD, et al. Altered sirtuin expression is associated with node-positive breast cancer. *Brit J Cancer*. 2006;95(8):1056-61.
89. Alhazzazi TY, Kamarajan P, Joo N, Huang JY, Verdin E, D'Silva NJ, et al. Sirtuin-3 (SIRT3), a Novel Potential Therapeutic Target for Oral Cancer. *Cancer-Am Cancer Soc*. 2011;117(8):1670-8.
90. Kamarajan P, Alhazzazi TY, Danciu T, D'silva NJ, Verdin E, Kapila YL. Receptor-interacting protein (RIP) and Sirtuin-3 (SIRT3) are on opposite sides of anoikis and tumorigenesis. *Cancer-Am Cancer Soc*. 2012;118(23):5800-10.
91. Csibi A, Fendt SM, Li CG, Poulogiannis G, Choo AY, Chapski DJ, et al. The mTORC1 Pathway Stimulates Glutamine Metabolism and Cell Proliferation by Repressing SIRT4. *Cell*. 2013;153(4):840-54.
92. Marquardt JU, Fischer K, Baus K, Kashyap A, Ma SY, Krupp M, et al. Sirtuin-6-Dependent Genetic and Epigenetic Alterations Are Associated With Poor Clinical Outcome in Hepatocellular Carcinoma Patients. *Hepatology*. 2013;58(3):1054-64.
93. Tjeertes JV, Miller KM, Jackson SP. Screen for DNA-damage-responsive histone modifications identifies H3K9Ac and H3K56Ac in human cells. *Embo Journal*. 2009;28(13):1878-89.
94. Sebastian C, Zwaans BMM, Silberman DM, Gymrek M, Goren A, Zhong L, et al. The Histone Deacetylase SIRT6 Is a Tumor Suppressor that Controls Cancer Metabolism. *Cell*. 2012;151(6):1185-99.
95. Wang JC, Kafeel MI, Avezbakiyev B, Chen C, Sun Y, Rathnasabapathy C, et al. Histone Deacetylase in Chronic Lymphocytic Leukemia. *Oncology-Basel*. 2011;81(5-6):325-9.
96. Khongkow M, Olmos Y, Gong C, Gomes AR, Monteiro LJ, Yague E, et al. SIRT6 modulates paclitaxel and epirubicin resistance and survival in breast cancer. *Carcinogenesis*. 2013;34(7):1476-86.
97. Bauer I, Grozio A, Lasiglie D, Basile G, Sturla L, Magnone M, et al. The NAD(+)-dependent Histone Deacetylase SIRT6 Promotes Cytokine Production and Migration in Pancreatic Cancer Cells by Regulating Ca<sup>2+</sup> Responses. *J Biol Chem*. 2012;287(49):40924-37.
98. de Nigris F, Cerutti J, Morelli C, Califano D, Chiariotti L, Viglietto G, et al. Isolation of a SIR-like gene, SIR-T8, that is overexpressed in thyroid carcinoma cell lines and tissues. *Brit J Cancer*. 2002;86(6):917-23.
99. Kim JK, Noh JH, Jung KH, Eun JW, Bae HJ, Kim MG, et al. Sirtuin7 oncogenic potential in human hepatocellular carcinoma and its regulation by the tumor suppressors MiR-125a-5p and MiR-125b. *Hepatology*. 2013;57(3):1055-67.
100. Hubbi ME, Hu HX, Kshitiz, Gilkes DM, Semenza GL. Sirtuin-7 Inhibits the Activity of Hypoxia-inducible Factors. *J Biol Chem*. 2013;288(29):20768-75.
101. Moynihan KA, Grimm AA, Plueger MM, Bernal-Mizrachi E, Ford E, Cras-Meneur C, et al. Increased dosage of mammalian Sir2 in pancreatic beta cells enhances glucose-stimulated insulin secretion in mice. *Cell Metab*. 2005;2(2):105-17.

102. Uribarri J, Cai W, Ramdas M, Goodman S, Pyzik R, Chen X, et al. Restriction of advanced glycation end products improves insulin resistance in human type 2 diabetes: potential role of AGER1 and SIRT1. *Diabetes care*. 2011;34(7):1610-6.
103. Granata R, Gallo D, Luque RM, Baragli A, Scarlatti F, Grande C, et al. Obestatin regulates adipocyte function and protects against diet-induced insulin resistance and inflammation. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2012;26(8):3393-411.
104. Chuang PY, Dai Y, Liu R, He H, Kretzler M, Jim B, et al. Alteration of forkhead box O (foxo4) acetylation mediates apoptosis of podocytes in diabetes mellitus. *Plos One*. 2011;6(8):e23566.
105. Yuan Y, Huang S, Wang W, Wang Y, Zhang P, Zhu C, et al. Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator 1alpha ameliorates mitochondrial dysfunction and protects podocytes from aldosterone-induced injury. *Kidney international*. 2012;82(7):771-89.
106. Michan S, Li Y, Chou MM, Parrella E, Ge H, Long JM, et al. SIRT1 is essential for normal cognitive function and synaptic plasticity. *J Neurosci*. 2010;30(29):9695-707.
107. Gao J, Wang WY, Mao YW, Graff J, Guan JS, Pan L, et al. A novel pathway regulates memory and plasticity via SIRT1 and miR-134. *Nature*. 2010;466(7310):1105-9.
108. Kim D, Nguyen MD, Dobbin MM, Fischer A, Sananbenesi F, Rodgers JT, et al. SIRT1 deacetylase protects against neurodegeneration in models for Alzheimer's disease and amyotrophic lateral sclerosis. *The EMBO journal*. 2007;26(13):3169-79.
109. Min SW, Cho SH, Zhou Y, Schroeder S, Haroutunian V, Seeley WW, et al. Acetylation of tau inhibits its degradation and contributes to tauopathy. *Neuron*. 2010;67(6):953-66.
110. Donmez G, Wang D, Cohen DE, Guarente L. SIRT1 suppresses beta-amyloid production by activating the alpha-secretase gene ADAM10. *Cell*. 2010;142(2):320-32.
111. Greco SJ, Hamzelou A, Johnston JM, Smith MA, Ashford JW, Tezapsidis N. Leptin boosts cellular metabolism by activating AMPK and the sirtuins to reduce tau phosphorylation and beta-amyloid in neurons. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;414(1):170-4.
112. Jiang M, Wang J, Fu J, Du L, Jeong H, West T, et al. Neuroprotective role of Sirt1 in mammalian models of Huntington's disease through activation of multiple Sirt1 targets. *Nat Med*. 2012;18(1):153-8.
113. Donmez G, Arun A, Chung CY, McLean PJ, Lindquist S, Guarente L. SIRT1 protects against alpha-synuclein aggregation by activating molecular chaperones. *J Neurosci*. 2012;32(1):124-32.
114. Sampaio-Marques B, Felgueiras C, Silva A, Rodrigues M, Tenreiro S, Franssens V, et al. SNCA (alpha-synuclein)-induced toxicity in yeast cells is dependent on sirtuin 2 (Sir2)-mediated mitophagy. *Autophagy*. 2012;8(10):1494-509.
115. Gal J, Bang Y, Choi HJ. SIRT2 interferes with autophagy-mediated degradation of protein aggregates in neuronal cells under proteasome inhibition. *Neurochemistry international*. 2012;61(7):992-1000.
116. Oellerich MF, Potente M. FOXOs and Sirtuins in Vascular Growth, Maintenance, and Aging. *Circ Res*. 2012;110(9):1238-51.
117. Mattagajasingh I, Kim CS, Naqvi A, Yamamori T, Hoffman TA, Jung SB, et al. SIRT1 promotes endothelium-dependent vascular relaxation by activating endothelial nitric oxide synthase. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(37):14855-60.
118. Yeung F, Hoberg JE, Ramsey CS, Keller MD, Jones DR, Frye RA, et al. Modulation of NF-kappaB-dependent transcription and cell survival by the SIRT1 deacetylase. *The EMBO journal*. 2004;23(12):2369-80.
119. Hashimoto-Komatsu A, Hirase T, Asaka M, Node K. Angiotensin II induces microtubule reorganization mediated by a deacetylase SIRT2 in endothelial cells. *Hypertens Res*. 2011;34(8):949-56.
120. Balaiya S, Khetpal V, Chalam KV. Hypoxia initiates sirtuin1-mediated vascular endothelial growth factor activation in choroidal endothelial cells through hypoxia inducible factor-2 alpha. *Mol Vis*. 2012;18(12-14):114-20.

121. Planavila A, Iglesias R, Giralt M, Villarroya F. Sirt1 acts in association with PPARalpha to protect the heart from hypertrophy, metabolic dysregulation, and inflammation. *Cardiovascular research*. 2011;90(2):276-84.
122. Sack MN. The role of SIRT3 in mitochondrial homeostasis and cardiac adaptation to hypertrophy and aging. *J Mol Cell Cardiol*. 2012;52(3):520-5.
123. Yu SS, Cai Y, Ye JT, Pi RB, Chen SR, Liu PQ, et al. Sirtuin 6 protects cardiomyocytes from hypertrophy in vitro via inhibition of NF- $\kappa$ B-dependent transcriptional activity. *Brit J Pharmacol*. 2013;168(1):117-28.
124. Howitz KT, Bitterman KJ, Cohen HY, Lamming DW, Lavu S, Wood JG, et al. Small molecule activators of sirtuins extend *Saccharomyces cerevisiae* lifespan. *Nature*. 2003;425(6954):191-6.
125. Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H, Lerin C, Daussin F, et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1 alpha. *Cell*. 2006;127(6):1109-22.
126. Baur JA, Pearson KJ, Price NL, Jamieson HA, Lerin C, Kalra A, et al. Resveratrol improves health and survival of mice on a high-calorie diet. *Nature*. 2006;444(7117):337-42.
127. Pearson KJ, Baur JA, Lewis KN, Peshkin L, Price NL, Labinskyy N, et al. Resveratrol delays age-related deterioration and mimics transcriptional aspects of dietary restriction without extending life span. *Cell Metab*. 2008;8(2):157-68.
128. Baur JA, Sinclair DA. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews Drug discovery*. 2006;5(6):493-506.
129. Lofrumento DD, Nicolardi G, Cianciulli A, De Nuccio F, La Pesa V, Carofiglio V, et al. Neuroprotective effects of resveratrol in an MPTP mouse model of Parkinson's-like disease: possible role of SOCS-1 in reducing pro-inflammatory responses. *Innate immunity*. 2014;20(3):249-60.
130. Shindler KS, Ventura E, Dutt M, Elliott P, Fitzgerald DC, Rostami A. Oral resveratrol reduces neuronal damage in a model of multiple sclerosis. *Journal of neuro-ophthalmology : the official journal of the North American Neuro-Ophthalmology Society*. 2010;30(4):328-39.
131. Zhou M, He JL, Yu SQ, Zhu RF, Lu J, Ding FY, et al. [Effect of resveratrol on chronic obstructive pulmonary disease in rats and its mechanism]. *Yao xue xue bao = Acta pharmaceutica Sinica*. 2008;43(2):128-32.
132. Rahal K, Schmiedlin-Ren P, Adler J, Dhanani M, Sultani V, Rittershaus AC, et al. Resveratrol has antiinflammatory and antifibrotic effects in the peptidoglycan-polysaccharide rat model of Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2012;18(4):613-23.
133. Timmers S, Konings E, Bilet L, Houtkooper RH, van de Weijer T, Goossens GH, et al. Calorie Restriction-like Effects of 30 Days of Resveratrol Supplementation on Energy Metabolism and Metabolic Profile in Obese Humans. *Cell Metab*. 2011;14(5):612-22.
134. Wong RHX, Howe PRC, Buckley JD, Coates AM, Kunz I, Berry NM. Acute resveratrol supplementation improves flow-mediated dilatation in overweight/obese individuals with mildly elevated blood pressure. *Nutr Metab Cardiovas*. 2011;21(11):851-6.
135. Howells LM, Berry DP, Elliott PJ, Jacobson EW, Hoffmann E, Hegarty B, et al. Phase I Randomized, Double-Blind Pilot Study of Micronized Resveratrol (SRT501) in Patients with Hepatic Metastases-Safety, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics. *Cancer Prev Res*. 2011;4(9):1419-25.
136. Tang BL. Resveratrol is neuroprotective because it is not a direct activator of Sirt1-A hypothesis. *Brain Res Bull*. 2010;81(4-5):359-61.
137. Milne JC, Lambert PD, Schenk S, Carney DP, Smith JJ, Gagne DJ, et al. Small molecule activators of SIRT1 as therapeutics for the treatment of type 2 diabetes. *Nature*. 2007;450(7170):712-6.
138. Minor RK, Baur JA, Gomes AP, Ward TM, Csiszar A, Mercken EM, et al. SRT1720 improves survival and healthspan of obese mice. *Sci Rep-Uk*. 2011;1.
139. Chauhan D, Bandi M, Singh AV, Ray A, Raje N, Richardson P, et al. Preclinical evaluation of a novel SIRT1 modulator SRT1720 in multiple myeloma cells. *Brit J Haematol*. 2011;155(5):588-98.

140. Ellis JL, Gagne DJ, Suri V, Cermak JM, Lyng GD, Guarente LP, et al. Srt2104, a Novel and Selective Small Molecule Sirt1 Activator, Inhibits Dss-Induced Colitis in a Sirt1-Dependent Manner. *Inflamm Res*. 2011;60:240-1.
141. Venkatasubramanian S, Noh RM, Daga S, Langrish JP, Joshi NV, Mills NL, et al. Cardiovascular Effects of a Novel SIRT1 Activator, SRT2104, in Otherwise Healthy Cigarette Smokers. *J Am Heart Assoc*. 2013;2(3).
142. van der Meer AJ, Scicluna B, Lin J, Jacobson EW, Vlasuk GP, van der Poll T. The First Demonstration of Clinical Activity by a Small Molecule Sirt1 Activator: Srt2104 Reduces Cytokine Release and Coagulation Activation in a Human Endotoxemia Model. *Inflamm Res*. 2011;60:82-.
143. Alcain FJ, Villalba JM. Sirtuin inhibitors. *Expert Opin Ther Pat*. 2009;19(3):283-94.
144. Chen L. Medicinal Chemistry of Sirtuin Inhibitors. *Curr Med Chem*. 2011;18(13):1936-46.
145. Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, et al. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene*. 2006;25(2):176-85.
146. Outeiro TF, Kontopoulos E, Altmann SM, Kufareva I, Strathearn KE, Amore AM, et al. Sirtuin 2 inhibitors rescue alpha-synuclein-mediated toxicity in models of Parkinson's disease. *Science*. 2007;317(5837):516-9.
147. Luthi-Carter R, Taylor DM, Pallos J, Lambert E, Amore A, Parker A, et al. SIRT2 inhibition achieves neuroprotection by decreasing sterol biosynthesis. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(17):7927-32.
148. Heltweg B, Gattbonton T, Schuler AD, Posakony J, Li HZ, Goehle S, et al. Antitumor activity of a small-molecule inhibitor of human silent information regulator 2 enzymes. *Cancer Res*. 2006;66(8):4368-77.
149. Lara E, Mai A, Calvanese V, Altucci L, Lopez-Nieva P, Martinez-Chantar ML, et al. Salermide, a Sirtuin inhibitor with a strong cancer-specific proapoptotic effect. *Oncogene*. 2009;28(6):781-91.